



北海道公立大学法人
札幌医科大学
Sapporo Medical University

SAPPORO MEDICAL UNIVERSITY INFORMATION AND KNOWLEDGE REPOSITORY

Title 論文題目	Novel antimicrobial activities of a peptide derived from a Japanese soy bean fermented food, Natto, against <i>Streptococcus pneumoniae</i> and <i>Bacillus subtilis</i> group strains (納豆由来ペプチドの肺炎球菌およびサブチリスグループに属するバチラス属細菌に対する新奇な抗菌活性)
Author(s) 著 者	北川, 学
Degree number 学位記番号	甲第 2954 号
Degree name 学位の種別	博士 (医学)
Issue Date 学位取得年月日	2017-03-31
Original Article 原著論文	札幌医学雑誌 第 86 巻 第 1 号
Doc URL	
DOI	
Resource Version	

学位論文の内容の要旨

報 告 番 号	甲第 2954 号	氏 名	北川 学
<p>論文題名</p> <p>Novel antimicrobial activities of a peptide derived from a Japanese soy bean fermented food, Natto, against <i>Streptococcus pneumoniae</i> and <i>Bacillus subtilis</i> group strains</p> <p>研究目的</p> <p>納豆は日本固有の伝統的発酵食品である。近年、納豆抽出画分に殺がん細胞作用があることが報告され、活性画分の精製により分子量約 5,000、アミノ酸 45 残基のペプチド（納豆ペプチド）が同定された。本ペプチドは多くの抗菌ペプチドの特徴とされる両親媒性の α-ヘリックスに富む構造を持つことが推定されている。このような特徴を持つ抗菌ペプチドは広範囲の細菌、真菌に抗菌作用を持つことが多い。そこで、納豆ペプチドにも同様な殺菌作用があると考え、その評価を行った。</p> <p>研究方法</p> <p>市販の納豆をホモジナイズ後に上清を回収して、30-50%飽和硫酸沈殿画分を取得した。透析後、Butyl-Sepharose を用いた疎水性カラムクロマトグラフィーによって納豆ペプチドを精製した。1) さまざまな細菌、真菌について納豆ペプチドの最小発育阻止濃度 (MIC) を Clinical Laboratory Standards Institute が定める方法を参考にして測定した。培地は 5%ウマ溶血液添加 Todd Hewitt broth を用いた。2) <i>Streptococcus pneumoniae</i> R6 株、<i>Bacillus subtilis</i> AHU 1708^T 株の納豆ペプチド存在下および非存在下での増殖曲線を比較した。3) <i>S. pneumoniae</i> R6 株、<i>B. subtilis</i> AHU 1708^T 株の納豆ペプチド存在下での細胞形態を透過電子顕微鏡にて観察した。4) 溶血液に含まれる納豆ペプチドの殺菌作用に対する増強因子を検討した。</p> <p>研究成績</p> <p>1) 24 種 45 株に対して納豆ペプチドの MIC を測定したところ、<i>S. pneumoniae</i> および一部の <i>Bacillus</i> 属細菌に対してのみ低い MIC (80-160 μg/mL) が認められた。また、培地に溶血液を添加することにより抗菌活性の上昇が認められた。2) 納豆ペプチド存在下での <i>S. pneumoniae</i> R6 株の増殖曲線から、納豆ペプチドは添加初期には菌の増殖に影響がなく、殺菌効果は添加数時間後から出現した。これに対し <i>B. subtilis</i> AHU 1708^T 株に対しては添加後すぐに殺菌効果が出現した。3) 納豆ペプチド存在下での R6 株の形態</p>			

観察により、本来双球菌である *S. pneumoniae* がレンサ状になり、その後すみやかな溶菌が認められた。*B. subtilis* に関しては、納豆ペプチド存在下で膜破壊像が観察された。

4) 溶血液の成分であるヘミンを添加すると濃度依存的に納豆ペプチドの抗菌活性上昇が見られたことから、溶血液中のヘミンが納豆ペプチドの殺菌効果を増強すると考えられた。

考察

納豆ペプチドは *S. pneumoniae* と *Bacillus* 属のうち *B. subtilis* group に属する細菌にのみ抗菌活性を有し、非常に狭いユニークな抗菌スペクトルを示した。*S. pneumoniae* に対しては、細胞分裂時の細胞の分離不全が納豆ペプチドの存在で起こることで溶菌がすみやかに起きることが示唆された。*B. subtilis* の場合には、すみやかな膜傷害が認められたことから、直接の膜傷害が作用機序と考えられ、これら 2 種の細菌への作用機序は異なることが示唆された。納豆ペプチドのアミノ酸配列は、*B. subtilis* が産生するセリンプロテアーゼであるナットウキナーゼの C 末端近傍の配列とほぼ一致していることから、本ペプチドは *B. subtilis* の自己溶解（自殺）機構のひとつであることが考えられた。

結論

殺がん細胞活性を有する納豆ペプチドは、枯草菌・肺炎球菌に対して特異的な狭いスペクトルの抗菌効果を有することを明らかにした。肺炎球菌は市中の呼吸器感染症、髄膜炎等の侵襲性感染症において臨床的に非常に重要な菌種である。納豆ペプチドの肺炎球菌に対する特異的な抗菌作用は、その分子的な作用機序の解明をすることで、肺炎球菌感染症治療に対する常在細菌叢に影響を与えない肺炎球菌特異的な抗菌薬の創製に応用できるものと考えている。

論文審査の要旨及び担当者

(平成 29 年 3 月 31 日授与)

報告番号	甲第 2954 号	氏 名	北川 学
論文審査 担 当 者	主査 教授 宮本 篤	副査 教授 横田 伸一	
	副査 教授 小林 宣道	委員 教授 高橋 聡	

論文題名	Novel antimicrobial activities of a peptide derived from a Japanese soy bean fermented food, Natto, against <i>Streptococcus pneumoniae</i> and <i>Bacillus subtilis</i> group strains
結果の要旨	
<p>本研究では納豆抽出画分より精製した、アミノ酸 45 残基からなるペプチド（納豆ペプチド）がウマ溶血液、またはヘミン存在下で抗菌ペプチドには珍しく特定の菌種のみ、具体的には肺炎球菌・バチラスサブチリスグループに属するバチラス属細菌に対し特異的に作用する新奇な抗菌効果を示すことを見出した。</p> <p>以上の結果より、本研究は肺炎球菌感染症治療に対する常在細菌叢に影響を与えない肺炎球菌特異的な抗菌薬の創製に応用可能であり、博士（医学）の学位授与に値すると審査委員全員に認められた。</p>	